



TITLE:

各種心筋保護法の実験的, 臨床的検討 : 特にMannitol-Insulin-Potassium(MIK)-Solutionによる間歇的冷却冠灌流法の臨床応用について

AUTHOR(S):

村田, 雄彦

CITATION:

村田, 雄彦. 各種心筋保護法の実験的, 臨床的検討 : 特にMannitol-Insulin-Potassium(MIK)-Solutionによる間歇的冷却冠灌流法の臨床応用について. 日本外科宝函 1981, 50(5): 669-688

ISSUE DATE:

1981-09-01

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/208555>

RIGHT:

各種心筋保護法の実験的、臨床的検討
特に Mannitol-Insulin-Potassium(MIK)-Solution
による間歇的冷却冠灌流法の臨床応用について

京都大学医学部外科学教室第2講座（指導：日笠頼則教授）

村 田 雄 彦

〔原稿受付：昭和56年7月9日〕

Experimental and Clinical Studies on Various Methods
of Myocardial Protection—With Special Reference
to Mannitol-Insulin-Potassium(MIK)-Solution

KATSUHIKO MURATA

The 2nd Department of Surgery, Faculty of Medicine, Kyoto University
(Director: Prof. Dr. YORINORI HIKASA)

In this paper, 9 model groups for myocardial protection in animal experiments were inspected from the aspect of myocardial energy metabolism (Energy Charge), cardiac function and ultrastructural evaluation. Nine groups were as follows:

- Group 1: Anoxic arrest without cooling.
- Group 2: Cardiac arrest by Young Solution without cooling.
- Group 3: Cardiac arrest by Young Solution plus coronary perfusion with GIK-Solution without cooling.
- Group 4: Anoxic arrest with cooling (Myocard. Temp. 15°C).
- Group 5: Cardiac arrest by Young Solution with cooling (Myocard. Temp. 15°C).
- Group 6: Cardiac arrest by Young Solution plus coronary perfusion with GIK-Solution with cooling (Myocard. Temp. 15°C).
- Group 7: Cardiac arrest by Young Solution plus coronary perfusion with Mannitol-Insulin-Potassium (MIK)-Solution with cooling (Myocard. Temp. 15°C).
- Group 8: Cardiac arrest by Young Solution plus coronary perfusion with modified MIK-Solution containing of Mg^{++} and Ca^{++} with colling (Myocard. Temp. 15°C).
- Group 9: Cardiac arrest by Young Solution plus coronary perfusion with Mannitol-Potassium (MK)-Solution with cooling (Myocard. Temp. 15°C).

Key words: Myocardial protection, Intermittent coronary perfusion with cold cardioplegia, Mannitol-Insulin-Potassium(MIK)-Solution, Modified MIK-Solution, Glucose-Insulin-Potassium(GIK)-Solution.

索引語：心筋保護，間歇的冷却冠灌流法，MIK-液，Modified MIK-液，GIK-液。

Present address: The 2nd Department of Surgery, Faculty of Medicine, Kyoto University, Sakyo-ku, Kyoto, 606, Japan.

The absolute safe period of ischemia in animal experiments was 30 min. in Group 1, 60 min. in Group 2, 3, 4, 120 min. in Group 5, 9 and 180 min. in Group 6, 7, 8. In the clinical studies, the methods of Group 6, 7, 8 were performed with excellent results. We could find no differences in these 3 methods from the point of myocardial energy metabolism and cardiac function in animal experiments, and observations of the myocardial ultrastructure, cardiac function, intra- and postoperative changes of serum CPK-MB activity in clinical applications.

はじめに

近年、心臓外科の発展にともない、重症心疾患に対する手術適応が拡大され、開心術における心筋保護の重要性が再び注目されるようになった。京都大学第2外科においては、従来から開心術に際し、低体温法を中心とする心筋保護を行ってきたが、その後、動物実験の成果とその臨床応用により、冷却ヤング氏液による急速心停止に続く局所冷却法と高濃度カリウム液による30分毎の間の冷却冠灌流法の併用が最も優れた心筋保護法であるという結論を得た。灌流液は初期には、Glucose-Insulin-Potassium (GIK) 液を使用した

題を検討するため、Glucose を、Mannitol に代えた Mannitol-Insulin-Potassium (MIK) Solution を試用し、更に Ca, Mg の心筋保護効果を検討するため、それらを添加した modified MIK-Solution を作成した。この新しい心筋保護液を動物実験にて検討した上で、臨床例に応用した。本論文では、これらの実験並に、臨床成績について検討するとともに、心筋保護法について若干の考察を加える。

I 実験的研究

実験対象

心筋保護効果を比較検討するため、表1に示す9群を対象とした。常温阻血群 (Group 1) を対照群とした。

表1 実験 Model の分類

| |
|---|
| Group 1 : 常温 Anoxic Arrest 群 |
| Group 2 : 常温 Young 氏液使用群 |
| Group 3 : 常温 Young 氏液+GIK 500 ml/30分 |
| Group 4 : 低温 Anoxic Arrest 群 (心筋温 15°C) |
| Group 5 : 低温 Young 氏液使用群 (心筋温 15°C) |
| Group 6 : 低温 Young 氏液+GIK 500 ml/30分 (心筋温 15°C) |
| Group 7 : 低温 Young 氏液+MIK 500 ml/30分 (心筋温 15°C) |
| Group 8 : 低温 Young 氏液+modified MIK 500 ml/30分 (心筋温 15°C) |
| Group 9 : 低温 Young 氏液+MK 500 ml/30分 (心筋温 15°C) |
| GIK: Glucose-Insulin-Potassium solution 5% glucose 500 ml+K ⁺ 10 mEq+R.I 10U+meylon 10 ml, pH 7.8, OSP 330 mOsm/L |
| MIK: Mannitol-Insulin-Potassium solution 5% mannitol 500 ml+K ⁺ 10 mEq+R.I 10U+meylon 10 ml, pH 7.8, OSP 330 mOsm/L |
| modified MIK :4% mannitol 500 ml+K ⁺ 10 mEq+Mg ⁺⁺ 16 mEq+Ca ⁺⁺ 1.4 mEq+ R.I 10U+meylon 10 ml, pH 7.8, OSP 340 mOsm/L |
| MK: Mannitol-Potassium solution 5% mannitol 500 ml+K ⁺ 10 mEq+meylon 10 ml, pH 7.8, OSP 330 mOsm/L |
| R.I: regular insulin OSP: osmotic pressure |

心筋保護効果の優劣判定には、心筋阻血中、並に阻血解除血流再開後の心筋 energy charge (EC)¹⁾の経時的変化、Lactate/Pyruvate 比 (L/P)^{35,46)}による細胞酸化還元状態の経時変化、心筋阻血前、阻血解除血流再開心蘇生後の左室 dp/dt などを指標として用いた。

実験方法

実験動物は、10～13 kg の雑種成犬を使用した。麻酔剤は、thiopental sodium 25 mg/kg を静注し、気管内挿管後、Harvard 社製 model 614 respirator で呼吸管理を行い、開胸は、両側第4肋間にて行った。心筋エネルギー物質、乳酸、ピルビン酸測定のためには、常温、拍動下にて左室心筋を採取し、ただちに液体窒素にて固定、これを対照とした。更に、表1の各群について、経時的に左室心筋を採取し、ただちに液体窒素にて固定し、上記の諸値を測定した。心筋保護液に

よる冠灌流施行群(第3, 6, 7, 8, 9群)では、ヤング氏液注入による急速心停止に続き、心筋保護液にて冠灌流を行い、灌流液は、冠静脈洞より体外に回収した。灌流は110 cm 水柱の落差圧で行い、500 ml の灌流液を約4分間で注入した。低温群については、実験では局所冷却法を原則として用いず、室温を8°C以下に保つことにより30分毎の4°C心筋保護液の灌流のみで心筋温を15°Cに保つことが可能であった。また低温非灌流群は、肺障害を起こさないように、心のう内へのみice-slushを注入して心筋温を15°Cに維持した。心蘇生には体外循環を用い、人工肺としてTemptrol気泡型人工肺を、血液ポンプにはSarns社製ローラーポンプを用いた。この際、Htは30%以上、PAO₂は100～300 mmHg、PACO₂は30～50 mmHg、BEは-3～+3、K⁺は3～5 mEq/Lの範囲に維持し、薬剤はpH

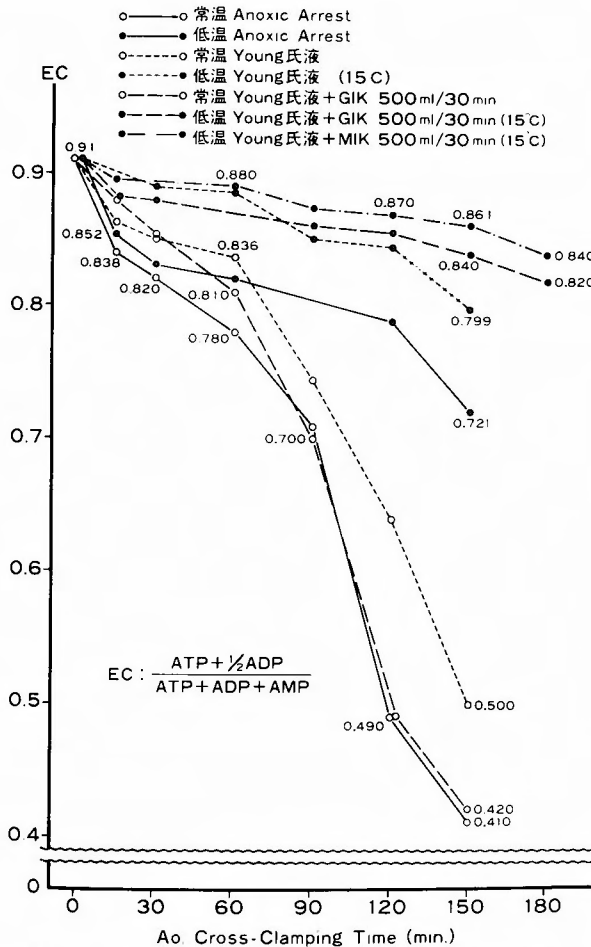


図1 大動脈遮断による心筋 Energy Charge (EC) の変動

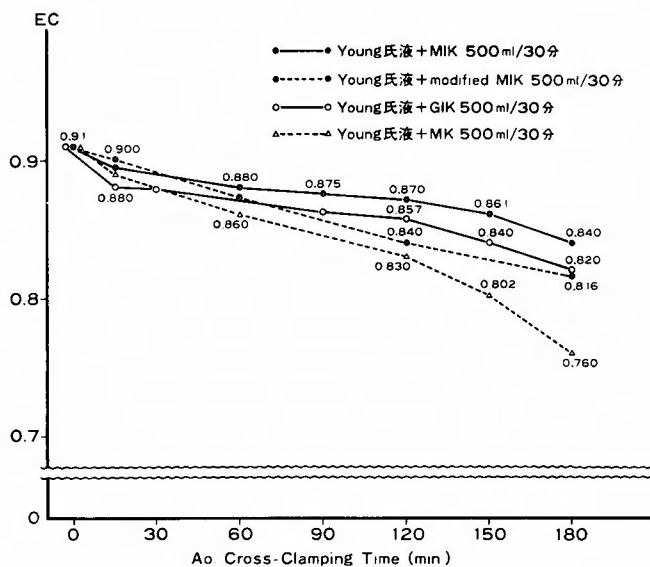


図2 低温 (心筋温 15°C) 大動脈遮断による心筋 Energy Charge の変動

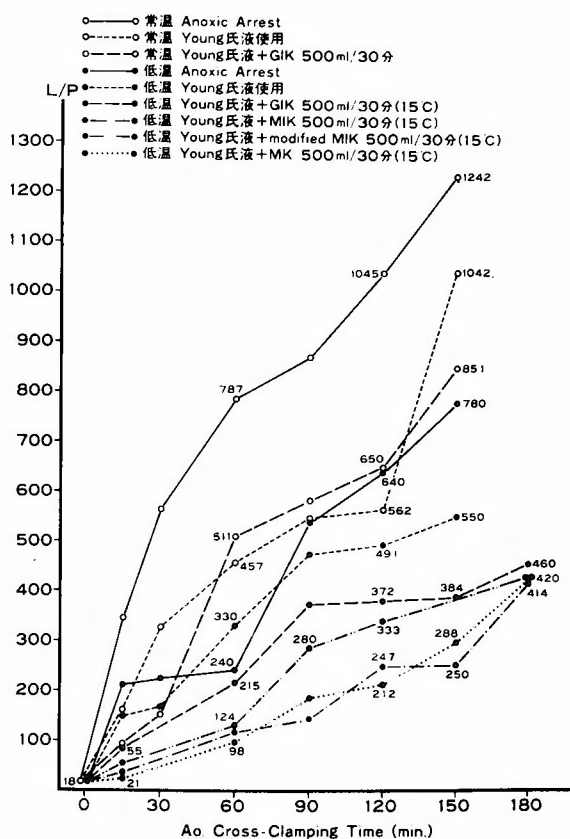


図3 大動脈遮断による心筋 [L/P] 比の変動

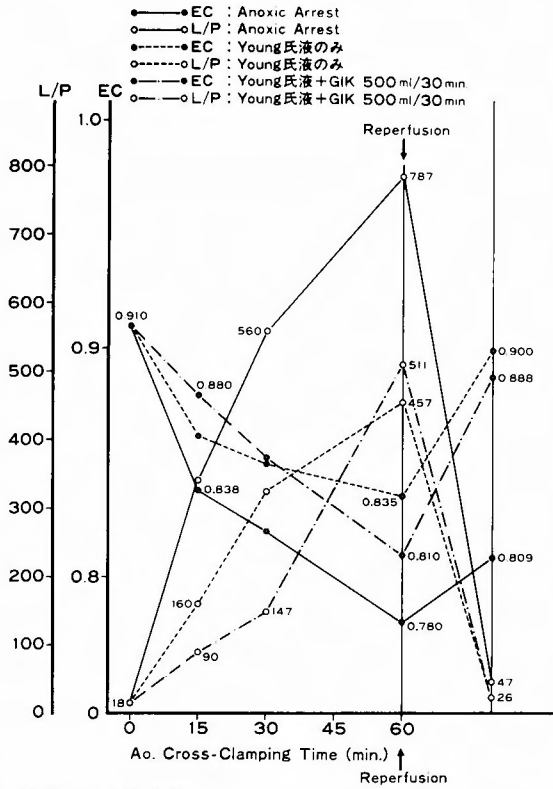


図4 常温、大動脈遮断60分後血流再開による心筋 [L/P], EC の変動

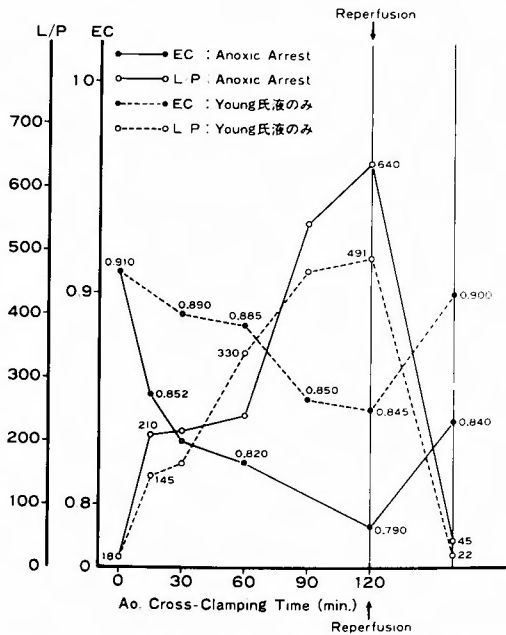


図5 低温(心筋温 15°C) 大動脈遮断120分後血流再開による心筋 [L/P], EC の変動

補正剤としての重炭酸ソーダ水 (メイロン液) 以外は使用しなかった。

実験結果

(1) 阻血後、心筋 energy charge (EC) の変化

1968年 Atkinson D.E. は、細胞内エネルギー貯蔵量を示す指標として、energy charge (EC) という新しい用語を定義した。細胞内に蓄積されているエネルギーの量は、アデノシン1個あたりのリン酸無水物結合の数に比例すると考えられるが、彼は、 $(ATP+1/2 ADP)/(ATP+ADP+AMP)$ なる値を energy charge (EC) とし、その数値は0~1の間にて変動するものと定義した。各実験群について心筋阻血後の EC の経時的変化をみると (図1, 2), 阻血60分を過ぎた時点では明らかに低温群 (第4, 5, 6, 7, 8, 9群), 特にヤング氏液使用後、30分毎の间歇的冠灌流群 (第6, 7, 8, 9群) が優れていた。しかし、阻血後30分迄であれば、常温であっても、ヤング氏液使用群 (第2, 3群) の方が単純低温群 (第4群) よりも優れており、ヤング氏液に

よる急速心停止が心筋エネルギー保存に有効であると考えられる。図1, 2から特に、心筋冷却, ヤング氏液使用後间歇的冠灌流群 (第6, 7, 8, 9群) のみを詳細に検討すると, GIK 液, MIK 液, modified MIK 液使用群 (第6, 7, 8群), とともに阻血180分後も EC は高値を保ち、有意差は認めなかった。insulin を含まない MK 液使用群は阻血120分以後は低値を示す傾向にあった。

(2) 阻血後、心筋 Lactate/Pyruvate 比 (L/P) の変化

図3に示すように、常温群 (第1, 2, 3群) は急速に還元状態に移行したが、低温群、特に心筋冷却, ヤング氏液使用後间歇的冠灌流群 (第6, 7, 8, 9群) では、より酸化型にとどまった。また EC と同様に、常温でも、ヤング氏液使用群 (第2, 3群) は、阻血早期では、単純低温群 (第4群) よりも優れていた。

(3) 再環流、心蘇生後の心筋 EC, L/P 比の動向

各実験群において、それぞれ、阻血解除、再環流20分後の EC, L/P 比を求めた。図4に示すように、常温阻血群 (第1群) では、阻血60分後の再環流で、

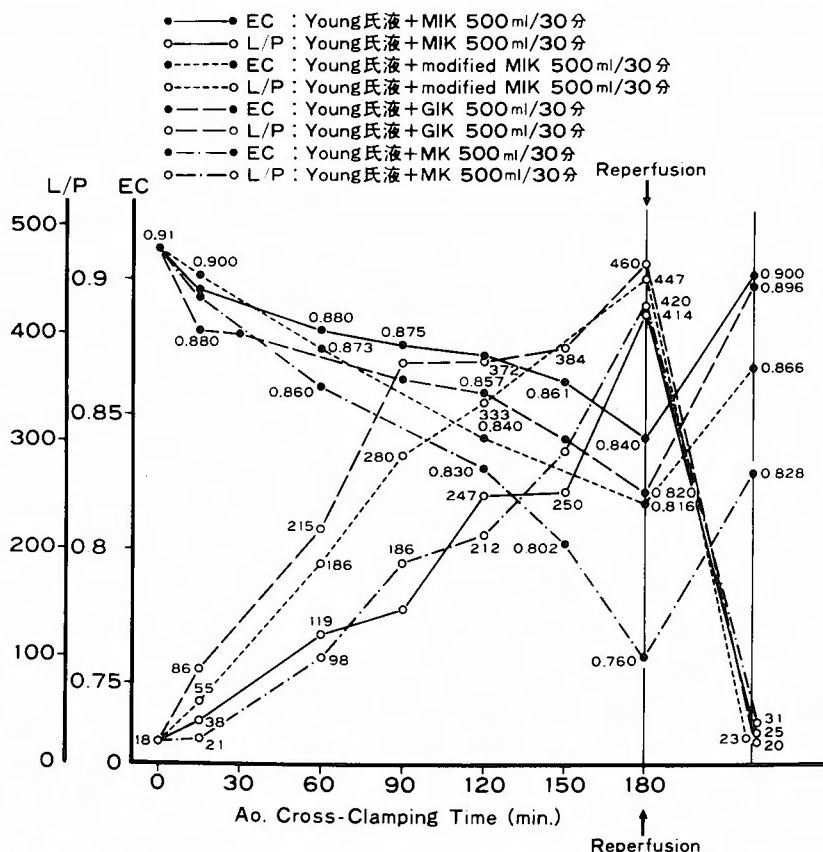


図6 低温 (心筋温 15°C) 大動脈遮断180分後血流再開による心筋 [L/P], EC の変動

EC 0.809, L/P 比47と回復は不充分であり、また心蘇生は得られなかった。しかし同じ常温下でも、ヤング氏液使用群(第2, 3群)では, EC, L/P 比ともに正常に回復し, 良好な心拍動が回復した。図5に示すように, 低温下阻血120分では, ヤング氏液使用群(第5群)では, EC, L/P 比ともに回復は充分で, 良好な心拍動が得られたが, 非使用群(第4群)では, EC L/P 比の

回復は不充分であった。心筋冷却併用, ヤング氏液使用後冠灌流群(第6, 7, 8, 9群)では, GIK 液, MIK 液, modified MIK 液使用群(第6, 7, 8群)ともに阻血180分後にもなお, EC は0.80以上に保たれ, 再環流によって, EC, L/P 比ともに control 値まで回復し, 良好な心拍動が得られた。insulin を含まない MK 液使用群(第9群)は, 阻血120分以後は, 心蘇生は得られな

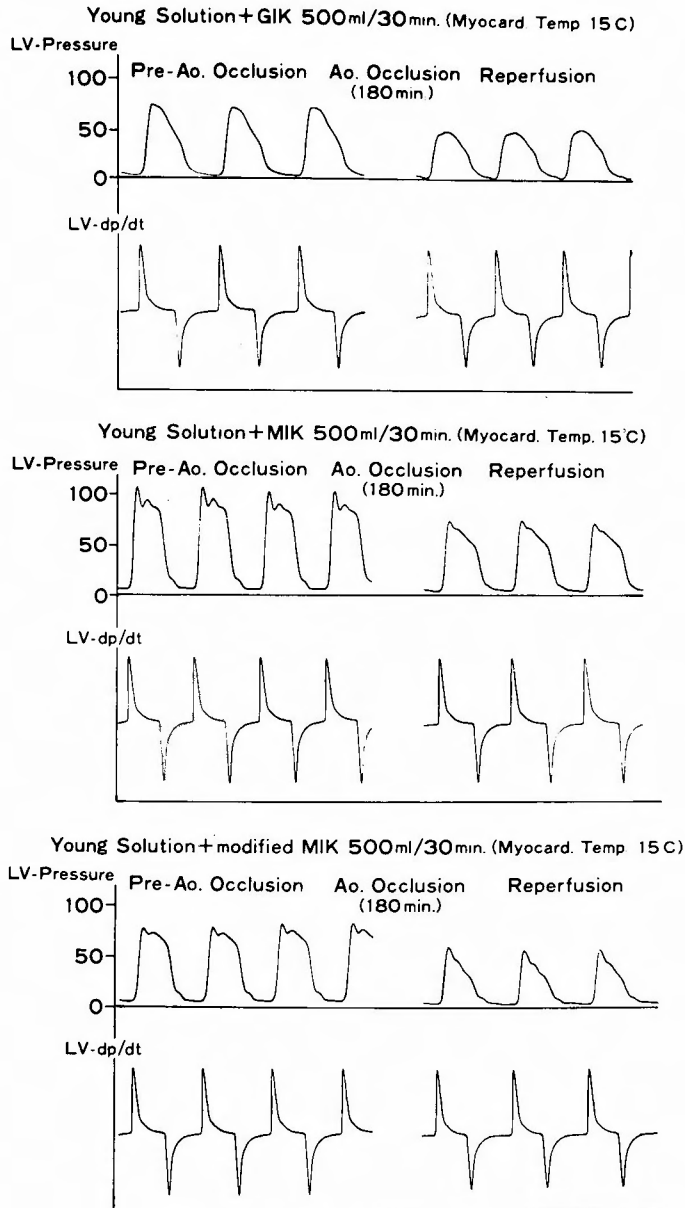


図7 阻血180分, 心蘇生後の左室 dp/dt の比較

かった(図6)。

(4) 心蘇生後の左室 dp/dt

阻血180分後の再環流によって、良好な心拍動が得られたのは、第6, 7, 8群, すなわち, 心筋冷却, ヤング氏液使用冠灌流併用群のみであった。図7に示すように、これら三群はいずれも、心拍動回復後には、左室 dp/dt は、阻血前値の80%迄の回復が得られた。

以上の実験の結果より、心筋冷却, ヤング氏液による急速心停止に続いて、insulin を含む高カリウム液による間歇的冠灌流を行う方法が心筋保護法として最も有用と考えられ、実験的には、180分間の阻血に充分耐えることが確認された。insulin の作用については、まだ完全には解明されておらず、今後の研究課題としていきたいと考える。心筋保護灌流液としての GIK 液, MIK 液, modified MIK 液については、三者間に有意差を認め得なかった。従って、これらの方法が、臨床的に、心筋保護法として有効であると判断し、臨床例に応用した。

II 臨床的検討

動物実験では、心筋保護液による冠灌流を30分毎に行ったが、臨床例では、術中、手術操作の妨げになるのを防ぐため、ヤング氏液による急速心停止に続いて、局所冷却を併用し、更に、60分毎の間歇的冠灌流法を行った。冠灌流を行うに当っては、図8に示すように著者が考案した心筋保護液灌流装置を使用した。この装置は、内径7mmのポリ塩化ビニル製回路を使用して回路抵抗を少くし、また回路内に気泡が全く発生しないように特殊加工を施した。そして熱交換器によ

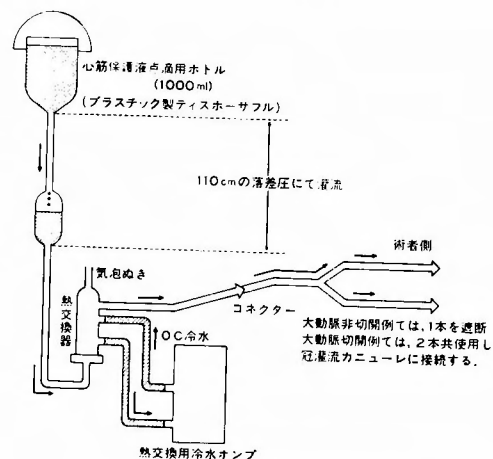


図8 心筋保護液灌流装置

り強力に冷却できるため、灌流液をあらかじめ冷却しなくとも容易に液温を4°C迄下降させることが可能であり、また操作も極めて簡単である。従って術者が望む時に望む量だけ、冠灌流を施行することができる。

症例と方法

症例は表2に示すように、MIK液使用群は、昭和53年10月から同12月迄に京都大学第2外科において開心術が施行された17例であり、modified MIK液使用群は、昭和54年1月から、同4月迄の18例である。これと対照するために、それ以前に行なわれた手術例の中から、(i), 人為細動下人工心肺による冠灌流群(1例)。(ii), 単純心筋冷却阻血群(Topical Cooling)(13例)。(iii), 心筋局所冷却併用, ヤング氏液使用に続くGIK液使用群(17例)を選び比較検討した。心筋保護効果の評価法としては、阻血解除後の心蘇生の状況(蘇生時の除細動の回数)、心筋の電子顕微鏡所見, Creatine Phosphokinase-MB (CPK-MB) 活性値^{34,36)}の変動などを用いた。除細動の時期は、阻血を解除し、心筋温が30°C以上に回復した時点であるが、これは、通常、血流再開後、平均15分後で、直流除細動器の出力は、通常20Jouleを用いて行った。また、CPK-MB活性値は、心筋切開、心筋切除によっても上昇する鋭敏な変化であるため、条件を一定にするために、対象例を、心室切開を行なわない後天性心疾患で、阻血時間30分以上100分以下の症例に限定した。

結果

(1) 心蘇生

心蘇生時の除細動の回数を表2に示した。MIK液、modified MIK液使用群の回復は良好で、35例中、9例に心拍動の自然再開が得られ、心室細動となった26例も、全例、除細動1回で心拍動を回復した。しかし、人為細動下、人工心肺による冠灌流群、単純心筋冷却群(Topical Cooling)では、心拍動の自然再開例はなく、全例に直流除細動を要し、その回数も多く、心拍動再開困難な傾向が見られた。GIK液使用群のNo.2症例は、除細動25回目にやっと心拍動が回復した例であったが、この症例は、術前から心肥大が著明で、図9に示すように心電図にてST, T波の著明な変化が認められた。このように心肥大が著明な症例においては、阻血時間を可能な限り短縮することが望ましいと考えられる。

(2) Creatine Phosphokinase-MB (CPK-MB) 活性値

表2 心筋保護法の臨床応用例

Young 氏液+GIK 500 ml/60 min. (心筋温 15°C)

| 症 例 | 年 令 | 病 名 | 大 動 脈 遮断時間 (min.) | 除細動 | 転帰 |
|-------|-----|-------------------------|-------------------------|-----|----|
| T. S. | 1 | PAPVR, PDA | 72 | 0 | 生 |
| S. N. | 48 | ASr, MRs, (AVR, MVR) | 92 | 25 | 生 |
| K. K. | 38 | MS, AR(OMC) | 17 | 2 | 生 |
| S. N. | 51 | MS (MVR) | 112 | 1 | 生 |
| S. I. | 4 | VSD | 26 | 1 | 生 |
| S. N. | 2 | TOF | 72 | 0 | 生 |
| Y. I. | 37 | MS (OMC) | 31 | 1 | 生 |
| T. Y. | 21 | Rupture of ASV | 23 | 2 | 生 |
| M. H. | 33 | AR, MS (AVR, OMC) | 116 | 2 | 生 |
| E. I. | 30 | MS (OMC) | 17 | 1 | 生 |
| K. M. | 4 | VSD, AR | 53 | 1 | 生 |
| N. K. | 53 | MS (OMC) | 24 | 1 | 生 |
| S. N. | 33 | MS (OMC) | 25 | 1 | 生 |
| Y. K. | 29 | MS (OMC) | 22 | 1 | 生 |
| K. S. | 60 | AR (AVR) | 95 | 1 | 生 |
| T. K. | 3 | VSD, AR | 53 | 1 | 生 |
| N. W. | 3 | TOF | 76 | 1 | 生 |

平均大動脈遮断時間 55分

Young 氏液+MIK 500 ml/60 min. (心筋温 15°C)

| 症 例 | 年 令 | 病 名 | 大 動 脈 遮断時間 (min.) | 除細動 | 転帰 |
|-------|-----|--------------------|-------------------------|-----|------------|
| T. Y. | 4 | TOF, 右冠動脈瘤 | 73 | 0 | 生 |
| T. T. | 5 | TOF | 41 | 0 | 生 |
| H. F. | 1 | TOF | 47 | 0 | 死 (脳障害) |
| N. O. | 2 | POF | 47 | 0 | 生 |
| Y. N. | 4 | ECD (完全型) | 121 | 1 | 生 |
| R. A. | 4 | ECD (部分型) | 47 | 1 | 生 |
| T. K. | 4 | TGA, VSD, PS | 115 | 1 | 死 (出血) |
| Y. B. | 8 | VSD | 30 | 1 | 生 |
| S. I. | 4 | VSD | 31 | 1 | 生 |
| T. K. | 3 | VSD, MR, PH | 53 | 1 | 生 |
| T. Y. | 9 | TGA, CV | 96 | 1 | 死 (脳障害) |
| Y. O. | 38 | MRs (MVR) | 74 | 1 | 生 |
| H. T. | 31 | MRs (MVR) | 42 | 1 | 生 |
| S. I. | 34 | MSi, TR (OMC) | 19 | 1 | 生 |
| N. H. | 5M | CTGA, VSD | 68 | 1 | 死 (肺出血) |
| I. I. | 50 | AR (AVR) | 81 | 1 | 生 |
| T. K. | 47 | CAD (AC-bypass) | 88 | 1 | 生 |

平均大動脈遮断時間 63分

Young 氏液+Modified MIK 500 ml/60 min.

(心筋温 15°C)

| 症 例 | 年 令 | 病 名 | 大 動 脈 遮断時間 (min.) | 除細動 | 転帰 |
|-------|-----|----------------------|-------------------------|-----|------------|
| F. F. | 35 | MS (OMC) | 23 | 1 | 生 |
| T. Y. | 2 | TGA, CV | 84 | 1 | 死 (出血) |
| T. K. | 46 | AR (AVR) | 89 | 1 | 生 |
| M. Y. | 53 | CAD (AC-bypass) | 48 | 1 | 生 |
| K. N. | 50 | Rupture of ASV | 30 | 1 | 生 |
| S. B. | 3 | TOF | 41 | 0 | 生 |
| S. N. | 2 | POF | 48 | 0 | 生 |
| M. K. | 31 | MR (MAnn) | 61 | 1 | 生 |
| A. H. | 3 | TOF | 64 | 0 | 生 |
| K. O. | 29 | AR, MS (AVR, OMC) | 63 | 1 | 生 |
| M. S. | 5 | VSD, PH | 27 | 1 | 生 |
| H. N. | | TGA, VSD, ASD, PS | 84 | 0 | 生 |
| T. O. | 3 | VSD, PH | 30 | 1 | 生 |
| K. T. | 48 | CAD (AC-bypass) | 101 | 3 | 死 (脳障害) |
| Y. K. | 4 | TGA, PA, PDA, VSD | 73 | 1 | 生 |
| H. U. | 21 | VSD | 17 | 1 | 生 |
| M. H. | 2 | TOF | 61 | 0 | 死 (LOS) |
| M. Y. | 4 | TOF | 50 | 1 | 生 |

平均大動脈遮断時間 55分

Topical Cooling (心筋温 15°C)

| 症 例 | 年 令 | 病 名 | 大 動 脈 遮断時間 (min.) | 除細動 | 転帰 |
|-------|-----|-------------------|-------------------------|-----|------------|
| A. U. | 38 | MR (MVR) | 34 | 1 | 生 |
| H. O. | 7 | CTGA, VSD, ASD | 69 | 1 | 死 (LOS) |
| K. O. | 52 | MR (MVR) | 40 | 1 | 生 |
| H. O. | 7 | SASS | 70 | 1 | 生 |
| J. U. | 5 | TOF | 31 | 1 | 死 (出血) |
| K. U. | 2 | TOF | 37 | 0 | 生 |
| K. T. | 28 | MRs (MVR) | 58 | 1 | 生 |
| T. N. | 5 | TOF | 23 | 0 | 生 |
| M. Y. | 3 | TOF | 30 | 0 | 生 |
| K. Y. | 36 | MS (OMC) | 6 | 1 | 生 |
| M. T. | 23 | MS (OMC) | 13 | 2 | 生 |
| M. O. | 4 | TOF | 35 | 1 | 生 |
| M. T. | 4 | VSD | 21 | 1 | 生 |

平均大動脈遮断時間 36分

ASV: Aneurysma of Sinus of Valsalva, CAD: Coronary Artery Disease, CV: Common Ventricle,
 POF: Pentalogy of Fallot, MAnn: Mitral Annuloplasty, OMC: Open Mitral Commissurotomy,
 CTGA: Corrected Transposition of Great Arteries, ECD: Endocardial Cushion Defect, SASS:
 Supra-Aortic Stenosis Syndrome, MVR: Mitral Valve Replacement, AVR: Aortic Valve Replacement

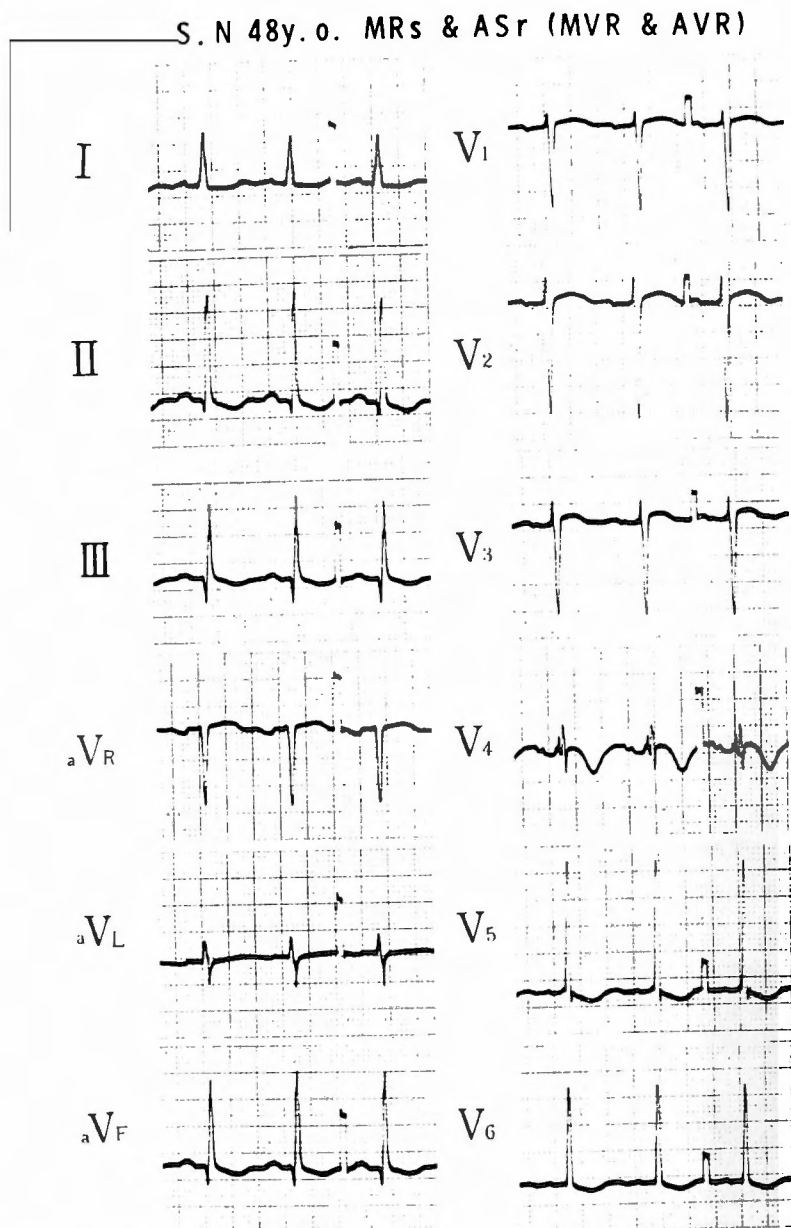


図9 術前心電図 (Young 氏液 + GIK 500 ml/30分, 心筋温 15°C)

の変動

CPK-MB 活性値の経時的測定値を図10に示した。全例において、手術開始とともに活性値の上昇が見られ、術後3~8時間後に最高値を示したが、38~48時間後には、低下傾向を示し、72時間後にはほぼ術前値に回復した。局所冷却併用、ヤング氏液による急速心停止に続く、MIK 液使用群、modified MIK 液使用群は、

人為細動下、人工心肺による冠灌流群、単純心筋冷却群に比べ、有意に低値を示したが、GIK 液使用群との間には、有意差は認められなかった。

(3) 微細構造の検討 (電子顕微鏡的検討)

心筋阻血による心筋微細構造の変化を検討するため、左室壁より心筋生検を行った。生検には、Travenol 社製 Disposable Biopsy Needle を使用した。生検の時

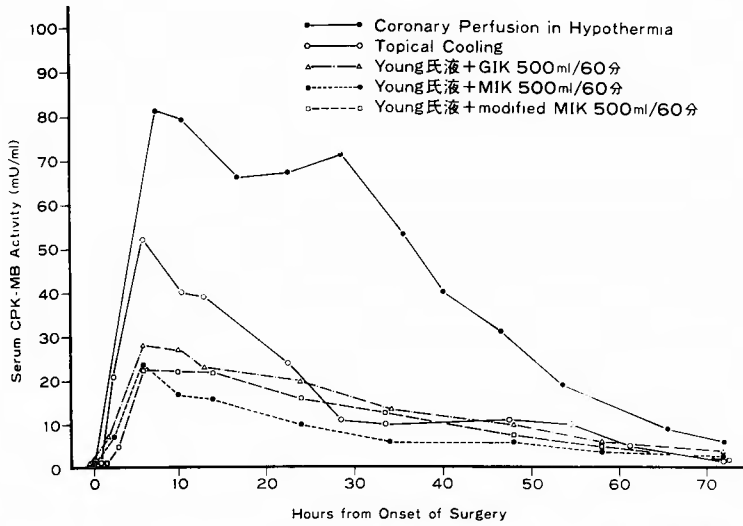


図10 CPK-MB Changes in Open Heart Surgery (Myocard. Temp. 15°C)

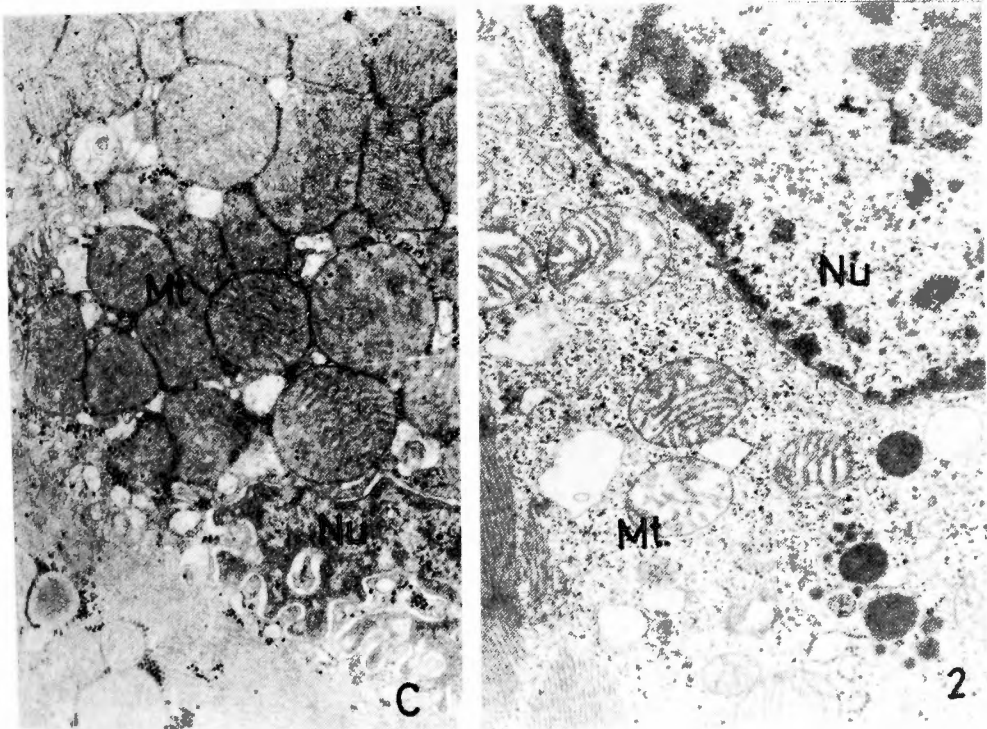


図11 人為細動下冠灌流法 (心筋温 15°C)

M. K. 30才 AR & MR (AVR, MVR) 冠灌流時間 96分

Nu: Nucleus Mt: Mitochondria

C: 大動脈遮断前 2: 大動脈遮断解除20分後

表3 Young 氏液 (500ml)

| | | |
|---|----|-----------|
| Potassium Citrate | *1 | 2.7000 g |
| Magnesium Sulfate | *2 | 12.3500 g |
| Sodium Bicarbonate | *3 | 0.0675 g |
| Sodium Chloride | *4 | 2.5000 g |
| Distilled Water | | q. s. |
| ad 500ml | | |
| *1 GR: $K_3C_6H_5O_7 \cdot H_2O = 324.42$ | | |
| *2 GR: $MgSO_4 \cdot 7H_2O = 246.48$ | | |
| *3 GR: $NaHCO_3 = 84.02$ | | |
| *4 GR: $NaCl = 58.44$ | | |
| pH 7.4 | | |
| Osmotic Pressure 320 mOsm/L | | |

期は、原則として体外循環中の心筋阻血前 (control), 阻血解除直前, 阻血解除再循環後20分, の計3回行い, 微細構造の変化を検討した。図11は, 人為細動下, 人工心肺による冠灌流施行例である。control にて, すでに核質内クロマチンの集積を認めたが, 冠灌流より体

外循環へ変更20分の所見では, control では見られなかった核及びミトコンドリアの膨化, 淡明化, クリスタの中等度破壊を認めた。図12は, 単純心筋冷却群の1例である。阻血前は, 核, ミトコンドリアに変化を認めなかったが, 阻血解除直前には, ミトコンドリアクリスタに軽度の破壊が見られ, また核質内クロマチンの集積を認めた。血流再開にて, 阻血前の状態に回復した。図13は, 局所冷却併用, ヤング氏液使用, GIK 液冠灌流群の1例である。阻血前に比べ, 阻血解除直前, 並に血流再開後も著変を認めず, 組織学的には心筋保護効果は満足すべきものであった。図14は, 局所冷却併用, ヤング氏液使用, MIK 液冠灌流群の1例で, 図15は, 局所冷却併用, ヤング氏液使用 modified MIK 液冠灌流群の1例である。両者とも, 阻血解除前にもミトコンドリアには, 殆んど変化なく, 血流再開後も著変を認めなかった。以上の結果より, 局所冷却併用, ヤング氏液による急速心停止に続く, 60分毎の MIK 液, modified MIK 液の間歇的冠灌流法は臨

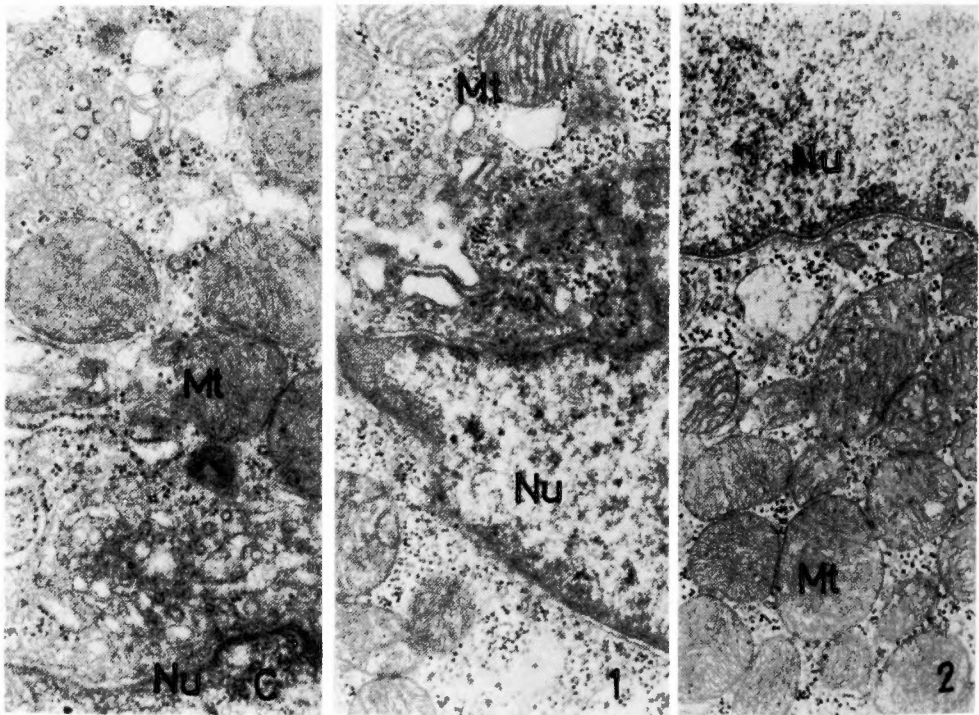


図12 局所冷却法 (心筋温 15°C)
K. T. 28才 MRs (MVR) 大動脈遮断時間 58分
Nu: Nucleus Mt: Mitochondria
C: 大動脈遮断前 1: 大動脈遮断解除前
2: 大動脈遮断解除20分後

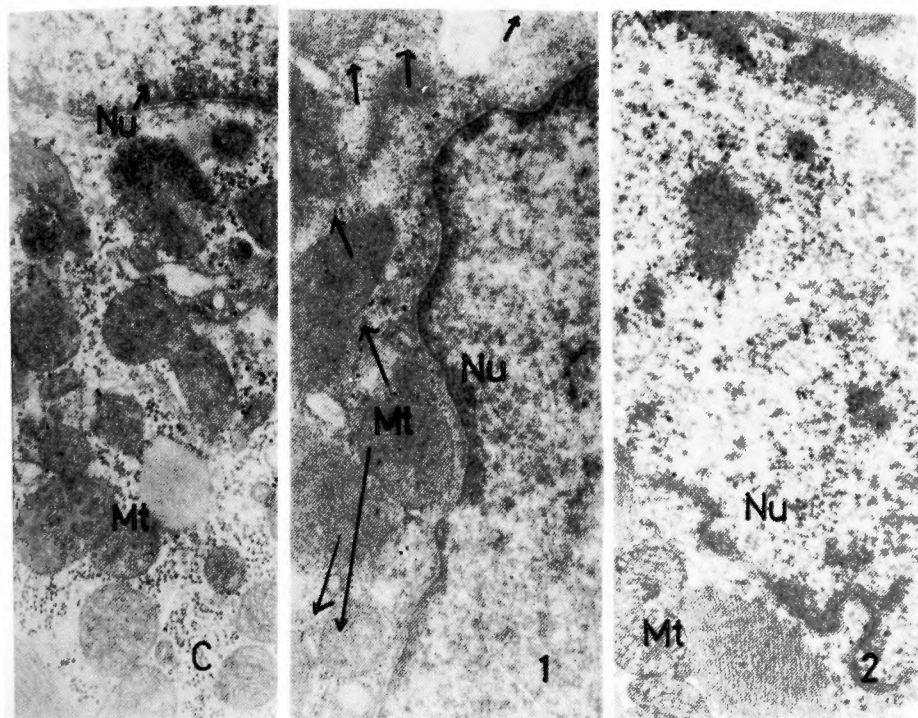


図13 Young Solution+GIK 500 ml/60分 (心筋温 15°C)

K. S. 60才 AR (AVR) 大動脈遮断時間 95分

Nu: Nucleus Mt: Mitochondria

C: 大動脈遮断前 1: 大動脈遮断解除前

2: 大動脈遮断解除20分後

床的にも心筋保護法として満足すべきもので、GIK液と比較して、その効果には殆んど有意差を認めなかった。人為細動下、人工心肺による冠灌流法は、適正灌流条件についてはまだ検討すべき点があり、また手術操作上にも問題が残るものと考えられた。Ca、Mgの心筋保護効果については、今回の検討ではその効果を明らかにできなかった。

考 案

心筋保護法について考える場合、開心術の術中に、心筋をより生理的な条件下に置くことが、理論的には理想的な方法であることは言うまでもない。持続的冠灌流法はこのような考えに基づいて行なわれるものであり、従来から多くの施設にて用いられてきた。しかしながら、臨床経験の蓄積とともに、灌流量、灌流圧などを含めた至適灌流条件について、多くの問題点が明らかになってきた⁴²⁾。さらに、冠灌流手技の煩雑さや、無血静止術野が得られないことなどの欠点を考え

合せれば、理想的ではあるが、かえって手術危険を増大することすらあり得る。逆に、理論的には非生理的であるとして、持続的冠灌流法にとってかわられていたかの観がある Cardioplegia と心筋冷却法による心筋のエネルギー物質の消費抑制を目的とする心筋保護法が再び注目されるようになった。Cardioplegiaを用いると無血静止術野が得られるが、これは術者にとっては、手術操作上極めて大きな利点の1つともなり、特に複雑な手術手技を行う場合には必須の条件でもある。Cardioplegia は、広義では心停止液と心筋保護液を意味する。現在心停止液としては、 K^+ 、 Mg^{++} イオンなどを含有するヤング氏液が多くの施設で使用されており、その有効性については異論のないところであり、使用量が比較的少量なことも相まって、大きな問題点はないものと思われる。しかし、一方の心筋保護液については、諸家により種々の組成の保護液が報告されている。もしも心筋保護液について、最も生理的に近い組成液を求めるとすれば、それは血液を主体と

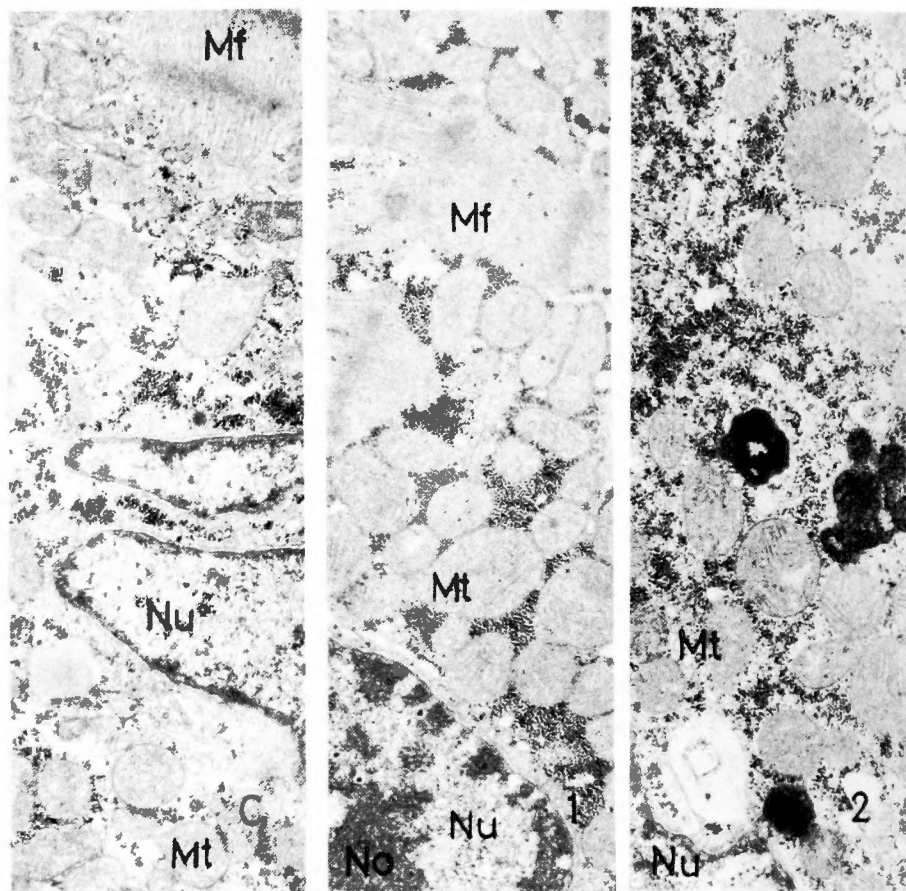


図14 Young Solution + MIK 500 ml/60分 (心筋温 15°C)

I. I. 50才 AR (AVR) 大動脈遮断時間 81分

Nu: Nucleus Mt: Mitochondria No: Nucleolus

Mf: Myofilament

C: 大動脈遮断前 1: 大動脈遮断解除前

2: 大動脈遮断解除20分後

するものであろう。すでにヘマトクリットを20%前後に希釈し、これに Mg, K, おど糖などを添加した灌流液を使用する方法を用いて、臨床的にも優れた成績が報告されている。Blood Cardioplegia の場合、阻血心筋に対して、酸素の供給が可能であり、かつ浸透圧その他の要素が最も生理的に近く調整されていることが利点として強調されている。しかしこれに対し、冷却による血液粘性の増加によって、冠動脈血管抵抗が増加し、毛細血管内における slugging 現象の発生が危ぶまれること、さらに心筋の tonus を完全に取り除けないため、無血完全弛緩静止術野が得られないという批判が行なわれており、晶質液による crystalloid

cardioplegia が有利か、血液を主体とする colloid cardioplegia が有利かについては多くの議論がなされている。現在、crystalloid cardioplegia として使用されている保護液の多くは、その組成中に、おど糖を含んでいる。その代表的なものが GIK 液である。この理論的根拠は、無酸素状態における嫌気性糖代謝によるエネルギー物質産生のための基質としてのおど糖の供給と心筋細胞内の K^+ イオンと ATP の減少の防止である。しかしながら、低温下におど糖が基質として現実に利用されるか否かに関しては問題のあるところである。われわれは、GIK 液と、おど糖をマニトールに置換した MIK 液を実験的に比較検討してみた。

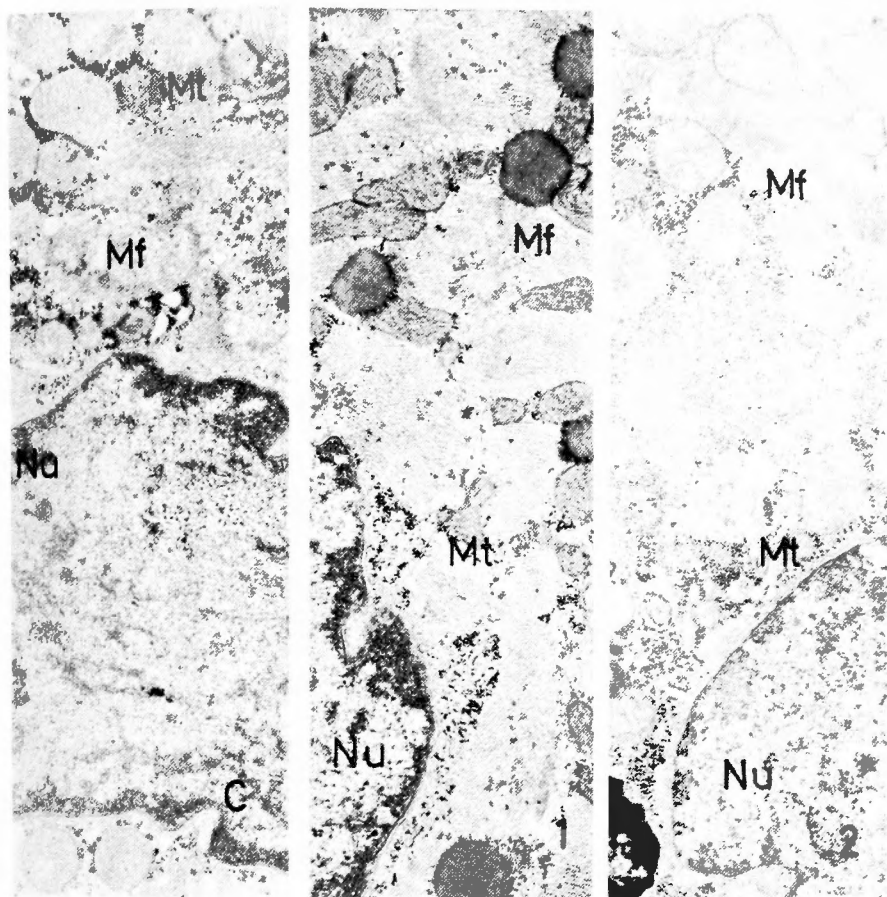


図15 Young Solution+modified MIK 500 ml/60分 (心筋温 15°C)

T. K. 46才 AR (AVR) 大動脈遮断時間89分

Nu: Nucleus Mt: Mitochondria Mf: Myofibril

C: 大動脈遮断前 1: 大動脈遮断解除前

2: 大動脈遮断解除20分後

その結果，エネルギー代謝面からECの変化をみると，いずれの場合にもEC値は良好であり，阻血時間180分においても可逆的な変化の範囲内にとどまったが，統計学的検討では，MIK液使用群の方がGIK液使用群よりも有意の差をもって優れているという結果が得られた(表4)。この事実は，心筋温15°C前後における180分間の嫌気性糖代謝が，ぶどう糖の補給を必要とするものであるか否か，おおいに疑問の存在するところである。著者が使用したMIK液は，その組成が極めて単純であり，したがって簡単に調整できる。また基質であるマニトールについては，その浸透圧利尿作用による腎保護作用が認められており，また，Fixlerらは，心筋保護効果を認めている⁹⁾。さらに無血完全

弛緩静止の状態が得られる点も考慮すれば，心筋保護液としてのMIK液は，多くの利点を有するものと考えられる。

結 語

心筋保護法の目的が，心筋の代謝を抑制し，心筋エネルギー物質の消費を抑えることにあるとすれば，ヤング氏液による急速心停止に続く，局所冷却併用60分毎のMIK液500 ml冠灌流法は，この目的を十分に満足させるものである。その結果，臨床的にも180分間にわたる心筋阻血後の十分な心機能回復が可能と考えられる。しかし，実験が，心筋障害をもたない動物を対象として行なわれた点を考慮すれば，心筋障害の

表4 低温(心筋温 15°C)大動脈遮断180分間における Energy Charge
(Control: Young 氏液+GIK 500ml/30分グループ)

(1) Young 氏液+MIK 500ml/30分

| Sample | 0分 | 15分 | 60分 | 90分 | 120分 | 150分 | 180分 |
|--------|-------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| 1 | 0.910 | 0.899 | 0.886 | 0.876 | 0.872 | 0.868 | 0.840 |
| 2 | 0.910 | 0.892 | 0.881 | 0.878 | 0.871 | 0.866 | 0.848 |
| 3 | 0.910 | 0.898 | 0.882 | 0.880 | 0.878 | 0.867 | 0.851 |
| 4 | 0.910 | 0.899 | 0.878 | 0.870 | 0.866 | 0.856 | 0.838 |
| 5 | 0.910 | 0.892 | 0.873 | 0.871 | 0.863 | 0.848 | 0.823 |
| mean | | 0.896 | 0.880 | 0.875 | 0.870 | 0.861 | 0.840 |
| S.D | | ±0.0038 | ±0.0049 | ±0.0044 | ±0.0058 | ±0.0087 | ±0.0109 |
| P | | NS | | | P<0.05 | | P<0.05 |

(2) Young 氏液+modified MIK 500ml/30分

| Sample | 0分 | 15分 | 60分 | 120分 | 180分 |
|--------|-------|---------|---------|---------|---------|
| 1 | 0.910 | 0.898 | 0.872 | 0.844 | 0.824 |
| 2 | 0.910 | 0.896 | 0.878 | 0.830 | 0.811 |
| 3 | 0.910 | 0.882 | 0.869 | 0.852 | 0.808 |
| 4 | 0.910 | 0.929 | 0.876 | 0.838 | 0.819 |
| 5 | 0.910 | 0.895 | 0.880 | 0.836 | 0.818 |
| mean | | 0.900 | 0.875 | 0.846 | 0.816 |
| S.D | | ±0.0173 | ±0.0045 | ±0.0084 | ±0.0065 |
| P | | P<0.01 | | P<0.01 | NS |

(3) Young 氏液+MK 500ml/30分

| Sample | 0分 | 15分 | 60分 | 120分 | 150分 | 180分 |
|--------|-------|---------|---------|---------|---------|---------|
| 1 | 0.910 | 0.890 | 0.864 | 0.826 | 0.810 | 0.742 |
| 2 | 0.910 | 0.884 | 0.869 | 0.833 | 0.800 | 0.772 |
| 3 | 0.910 | 0.904 | 0.856 | 0.830 | 0.792 | 0.770 |
| 4 | 0.910 | 0.886 | 0.851 | 0.831 | 0.806 | 0.756 |
| mean | | 0.891 | 0.860 | 0.830 | 0.802 | 0.760 |
| S.D | | ±0.0090 | ±0.0080 | ±0.0029 | ±0.0078 | ±0.0222 |
| P | | NS | | P<0.01 | | P<0.01 |

(4) Young 氏液+GIK 500ml/30分

| Sample | 0分 | 15分 | 30分 | 90分 | 120分 | 150分 | 180分 |
|--------|-------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| 1 | 0.910 | 0.888 | 0.882 | 0.865 | 0.861 | 0.848 | 0.827 |
| 2 | 0.910 | 0.874 | 0.869 | 0.858 | 0.852 | 0.838 | 0.833 |
| 3 | 0.910 | 0.879 | 0.874 | 0.864 | 0.862 | 0.836 | 0.816 |
| 4 | 0.910 | 0.877 | 0.876 | 0.845 | 0.843 | 0.824 | 0.811 |
| 5 | 0.910 | 0.882 | 0.879 | 0.863 | 0.867 | 0.854 | 0.813 |
| mean | | 0.880 | 0.876 | 0.860 | 0.857 | 0.840 | 0.820 |
| S.D | | ±0.0054 | ±0.0049 | ±0.0091 | ±0.0095 | ±0.0116 | ±0.0095 |

表5 低温(心筋温 15°C)大動脈遮断180分後、血流再開心蘇生時の Energy Charge
(Control: Young 氏液+GIK 500 ml/30分グループ)

(1) Young 氏液+MIK 500 ml/30分

| Sample | EC |
|--------|---------|
| 1 | 0.888 |
| 2 | 0.915 |
| 3 | 0.896 |
| mean | 0.896 |
| S.D | ±0.0221 |
| P | NS |

(2) Young 氏液+modified MIK 500 ml/30分

| Sample | EC |
|--------|---------|
| 1 | 0.896 |
| 2 | 0.846 |
| 3 | 0.857 |
| mean | 0.866 |
| S.D | ±0.0263 |
| P | NS |

(3) Young 氏液+MK 500 ml/30分

| Sample | EC |
|--------|---------|
| 1 | 0.794 |
| 2 | 0.856 |
| 3 | 0.834 |
| mean | 0.828 |
| S.D | ±0.0314 |
| P | P<0.05 |

(4) Young 氏液+GIK 500 ml/30分

| Sample | EC |
|--------|---------|
| 1 | 0.917 |
| 2 | 0.873 |
| 3 | 0.899 |
| mean | 0.900 |
| S.D | ±0.0139 |

表7 低温(心筋温 15°C)大動脈遮断180分後、血流再開心蘇生時の Lactate/Pyruvate 比
(Control: Young 氏液+GIK 500 ml/30分グループ)

(1) Young 氏液+MIK 500 ml/30分

| Sample | L/P |
|--------|------|
| 1 | 17 |
| 2 | 24 |
| 3 | 19 |
| mean | 20 |
| S.D | ±3.6 |
| P | NS |

(2) Young 氏液+modified MIK 500 ml/30分

| Sample | L/P |
|--------|------|
| 1 | 27 |
| 2 | 19 |
| 3 | 23 |
| mean | 23 |
| S.D | ±4.0 |
| P | NS |

(3) Young 氏液+MK 500 ml/30分

| Sample | L/P |
|--------|------|
| 1 | 34 |
| 2 | 30 |
| 3 | 29 |
| mean | 31 |
| S.D | ±2.6 |
| P | NS |

(4) Young 氏液+GIK 500 ml/30分

| Sample | L/P |
|--------|------|
| 1 | 31 |
| 2 | 21 |
| 3 | 23 |
| mean | 25 |
| S.D | ±5.3 |

表6 低温(心筋温 15°C)大動脈遮断180分間における Lactate/Pyruvate 比
(Control: Young 氏液+GIK 500 ml/30分グループ)

(1) Young 氏液+MIK 500 ml/30分

| Sample | 0分 | 15分 | 60分 | 90分 | 120分 | 150分 | 180分 |
|--------|----|--------|--------|--------|--------|------|-------|
| 1 | 18 | 34 | 107 | 133 | 232 | 238 | 388 |
| 2 | 18 | 38 | 126 | 159 | 271 | 272 | 458 |
| 3 | 18 | 48 | 132 | 166 | 288 | 291 | 441 |
| 4 | 18 | 29 | 108 | 112 | 188 | 191 | 352 |
| 5 | 18 | 40 | 124 | 140 | 256 | 258 | 432 |
| mean | | 38 | 119 | 142 | 247 | 250 | 414 |
| S.D | | ±7.1 | ±11.3 | ±21.5 | ±38.9 | 38.3 | ±43.3 |
| P | | P<0.01 | P<0.01 | P<0.01 | P<0.01 | | NS |

(2) Young 氏液+modified MIK 500 ml/30分

| Sample | 0分 | 15分 | 60分 | 90分 | 120分 | 180分 |
|--------|----|--------|--------|--------|-------|-------|
| 1 | 18 | 46 | 120 | 270 | 311 | 399 |
| 2 | 18 | 58 | 111 | 342 | 386 | 451 |
| 3 | 18 | 73 | 146 | 322 | 346 | 432 |
| 4 | 18 | 28 | 117 | 264 | 296 | 415 |
| 5 | 18 | 69 | 126 | 202 | 326 | 403 |
| mean | | 55 | 124 | 280 | 333 | 420 |
| S.D | | ±18.3 | ±13.4 | ±54.9 | ±34.9 | ±21.6 |
| P | | P<0.05 | P<0.01 | P<0.01 | NS | NS |

(3) Young 氏液+/MK 500 ml/30分

| Sample | 0分 | 15分 | 60分 | 90分 | 120分 | 150分 | 180分 |
|--------|----|--------|--------|--------|--------|-------|-------|
| 1 | 18 | 24 | 106 | 206 | 228 | 306 | 448 |
| 2 | 18 | 20 | 88 | 202 | 221 | 299 | 431 |
| 3 | 18 | 23 | 94 | 156 | 190 | 269 | 391 |
| 4 | 18 | 18 | 102 | 186 | 208 | 276 | 395 |
| mean | | 21 | 98 | 188 | 212 | 288 | 416 |
| S.D | | ±2.8 | ±8.1 | ±22.7 | ±16.7 | ±17.8 | ±27.8 |
| P | | P<0.01 | P<0.01 | P<0.01 | P<0.01 | | NS |

(4) Young 氏液+GIK 500 ml/30分

| Sample | 0分 | 15分 | 60分 | 90分 | 120分 | 150分 | 180分 |
|--------|----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 1 | 18 | 64 | 186 | 356 | 356 | 364 | 443 |
| 2 | 18 | 108 | 241 | 393 | 401 | 419 | 471 |
| 3 | 18 | 90 | 219 | 375 | 378 | 382 | 476 |
| 4 | 18 | 96 | 232 | 382 | 384 | 397 | 506 |
| 5 | 18 | 71 | 195 | 341 | 343 | 360 | 404 |
| mean | | 86 | 215 | 370 | 372 | 384 | 460 |
| S.D | | ±18.1 | ±23.6 | ±20.8 | ±23.0 | ±24.4 | ±38.5 |

少い先天性心疾患症例については殆んど問題はないとしても、肥大心、著明な心筋障害を伴う後天性心疾患症例については、なお検討の余地があり、できる限り、大動脈遮断時間を短くとどめることが望ましいものと考ええる。

稿を終るにあたり、終始御指導と御鞭達を戴き、且つ御校閲を賜りました恩師、日笠頼則教授に深甚の謝意を捧げますとともに、たえず御教示を戴きました本学外科学教室第2講座、龍田恵和講師に、また電子顕微鏡学的研究について御指導を戴きました本学内科学教室第3講座、石沢恭子先生に厚く御礼申し上げます。

(本論文の要旨は、第79回日本外科学会総会、ラウンドテーブルディスカッションにおいて発表した。)

文 献

- Atkinson DE: The energy charge of the adenylate pool as a regulatory parameter. *Biochemistry* **7**: 4030-4045, 1968.
- Björk VO, GHultquist G, et al: Brain damage in children after deep hypothermia for open heart surgery. *Thorax* **15**: 284.
- Braimbridge MV, Chayen J, et al: Cold cardioplegia or continuous coronary perfusion? Report on preliminary clinical experience as assessed cytochemically. *J Thoracic Cardiovas Surg* **74**: 900-906, 1977.
- Buckberg GD: Ventricular fibrillation. Its effect on myocardial flow, distribution, and performance. *Ann Thoracic Surg* **2v**: 76-85, 1975.
- Chance B: Control of energy metabolism. A Colloquium of the Johnson Research Found. Academic Press Inc., New York, 1965.
- Engedal H, Skagseth E, et al: Cardiac hypothermia evaluated by ultrastructural studies in man. *J Thoracic Cardiovas Surg* **75**: 548-554, 1978.
- Engelman RM, Baumann G, et al: Myocardial injury associated with potassium arrest. *Ann Thoracic Surg* **22**: 557-571, 1976.
- Ferrans VJ: Morphological methods for evaluation of myocardial protection. *Ann Thoracic Surg* **20**: 11-20, 1975.
- Fixler DE, Buja LM, et al: Influence of mannitol on maintaining coronary flows and salvaging myocardium during ventriculotomy and during prolonged coronary artery ligation. *Circulation* **56**: 340-346, 1977.
- Gay WA, Ebert PA: Functional, metabolic and morphologic effect of potassium-induced cardioplegia. *Surg* **74**: 284-290, 1970.
- Gott VL, Bartlett M, et al: Myocardial energy substances in the dog heart during potassium and hypothermic arrest. *J Appl Physiol* **17**: 815-822, 1962.
- Hearse DJ, Stewart DA, et al: Hypothermic arrest and potassium arrest. Metabolic and myocardial protection during elective cardiac arrest. *Cir Res* **36**: 481-489, 1975.
- Hewitt RL, Lolley DM, et al: Protective effect of glycogen and glucose on the anoxic arrested heart. *Surgery* **75**: 1-10, 1974.
- Hikasa Y, Shirotani H, et al: Open heart surgery under two years of age—Using deep hypothermia with surface cooling and partial cardiopulmonary bypass. *J Cardiovas Surg In press*.
- Horiuchi T, Koyamada K, et al: Radical operation under hypothermia for ventricular septal defect in infancy. *J Cardiovas Surg* **8**: 85-92, 1967.
- Hottenrott CE, Towers B, et al: The hazard of ventricular fibrillation in hypertrophied ventricles during cardiopulmonary bypass. *J Thoracic Cardiovas Surg* **66**: 742-753, 1973.
- Junge P, Hearse DJ, et al: Myocardial protection during ischemic cardiac arrest. *J Thoracic Cardiovas Surg* **73**: 848-855, 1977.
- Kato I, Kaihatsu N, et al: Intraoperative myocardial protection with Magnesium—Aspartate—Procaine (Kirsch's Solution)—cardiac arrest and cardioplegic coronary perfusion with cold solution containing 11ES. *Jap J Thoracic Surg* **31**: 494-499, 1978.
- 川上敏晃: 心臓冷却灌流法による心筋保護の研究, *日胸外会誌* **24**: 163-170, 1976.
- 河村慧四郎: 心筋アノキシアの微細構造, *心臓* **1**: 880-889, 1969.
- Kirsch V: Induced ischemic arrest. Clinical experience with cardioplegia in open heart surgery. *J Thoracic Cardiovas Surg* **63**: 121-130, 1972.
- 北村信夫: 各種心筋保護法の実験的検討と GIK 液による冠灌流冷却法の臨床応用, *胸部外科* **31**: 507-512, 1978.
- Kones RL: Glucose, Insulin, Potassium and the heart. Futula Publishing Co. New York, 1975.
- Kottmeire CA, Wheat MW, et al: Ultrastructural evaluation of myocardial preservation during cardiopulmonary bypass. The mitochondrion. *J Thoracic Cardiovas Surg* **52**: 786-797, 1966.
- Levitsky S, Merchant FJ, et al: Effect of KCl-induced cardiac arrest on energy metabolism and contractility of ischemic dog heart. *Fed Proc* **33**: 398, 1974.
- Liedtke AJ, Hughes FHC, et al: Effect of excess glucose and insulin on glycolytic metabolism during experimental myocardial ischemia. *Am J Card* **38**: 17-27, 1976.
- Miller DR, Rasmussen P, et al: Elective cardiac arrest. Its effect on myocardial structure and function. *Ann Surg* **154**: 751-768, 1961.

- 28) Miller DR, Rasmussen P, et al: Reversibility of morphologic changes following elective cardiac arrest. *Ann Surg* **159**: 208-218, 1964.
- 29) Mori A, Muraoka R, et al: Deep hypothermia combined with cardiopulmonary bypass for cardiac surgery in neonates and infants. *J Thoracic Cardiovas Surg* **64**: 422-429, 1972.
- 30) Muller JE, Mochizuki S, et al: Insulin therapy for depressed myocardial contractility after prolonged ischemia. *Am J Cardiology* **41**: 1215-1221, 1978.
- 31) 村上泰治: 心筋局所冷却法に関する実験的研究—とくに左室肥大心の局所冷却について, *日胸外会誌* **24**: 894-908, 1976.
- 32) 野々山明, 笠原憲二, 他: 体外循環下開心術中の心筋保護法—とくに冷却血液による選択的低流量冠流法について, *日胸外会誌* **24**: 1381-1392, 1978.
- 33) Oldham HN, Roe CR, et al: Intraoperative detection of myocardial damage during coronary artery surgery by plasma creatine phosphokinase isoenzyme analysis. *Surg* **74**: 917-925, 1973.
- 34) Opie LH: Metabolic regulation in ischemia. Effect of regional ischemia on metabolism of glucose and fatty acids. *Spp 1 Circ Res* **38**: 52-74, 1976.
- 35) Roe CR, Limbird LE, et al: Combined isoenzyme analysis in the diagnosis of myocardial injury: Application of electrophoretic methods for the detection and quantitation of the creatine phosphokinase MB isoenzyme. *J Lab Clin Med* **80**: 577-590, 1972.
- 36) Sealy WC, Young WG, et al: Potassium magnesium and neostigmine for controlled cardioplegia. *J Thoracic Cardiovas Surg* **37**: 655-665, 1959.
- 37) Shumway NE, Lower RR: Topical cardiac hypothermia for extended periods of anoxic arrest. *Surg Forum* **10**: 563-566, 1959.
- 38) Søndergaard T, Berg E, et al: Cardioplegic cardiac arrest in aortic surgery. *J Cardiovas Surg* **16**: 288-290, 1975.
- 39) Spanos PK: The significance of intraoperative ventricular fibrillation during aortic valve replacement. *J Thoracic Cardiovas Surg* **73**: 605-610, 1977.
- 40) Speicher CE, Ferrigan L, et al: Cold injury of myocardium and pericardium in cardiac hypothermia. *SGO* **114**: 659-665, 1962.
- 41) Spencer FC: Technical considerations of coronary perfusion during aortic valve replacement. *J Thoracic Cardiovas Surg* **9**: 562-572, 1968.
- 42) Spencer FC: Myocardial preservation. Open discussion. *J Thoracic Cardiovas Surg* **70**: 1024-1029, 1975.
- 43) Tyers GFO, Todd GJ, et al: The mechanism of myocardial damage following potassium citrate (Melrose) cardioplegia. *Surg* **78**: 45-53, 1975.
- 44) 渡辺高久, 高橋俊三他: 開心術時の心筋保護の研究—とくに保護効果因子の検討, *胸部外科* **31**: 500-506, 1978.
- 45) Williamson DH, Lung P, et al: The Redox State of free Nicotinamide-Adenine Dinucleotide in the cytoplasm and mitochondria of rat liver. *Biochem J* **103**: 514-527, 1967.
- 46) Zimmerman ANE, Daems W, et al: Morphological changes of heart muscle caused by successive perfusion with calcium-free and calcium-containing solutions (Calcium paradox). *Cardiovas Res* **1**: 201-209, 1967.